

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第 号	氏 名	林 地 のぞみ
<p>主 論 文 題 名</p> <p>G-CSF supports long-term muscle regeneration in mouse models of muscular dystrophy (顆粒球コロニー刺激因子は筋ジストロフィーモデルマウスにおいて長期筋再生を促す)</p>			
<p>(内容の要旨)</p> <p>顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte-colony stimulating factor: G-CSF) は、顆粒球など血液細胞の分化や増殖に重要である。近年の研究で、G-CSFが造血系細胞に作用するだけでなく、骨格筋再生時に筋芽細胞の増殖に必須であり、筋再生に重要な因子であることが明らかとなった。しかし、骨格筋の再生で最も上流で作用する骨格筋の組織幹細胞、筋衛星細胞に対するG-CSFの作用は知られていない。筋衛星細胞は、細胞分裂する際に、増殖能が高い筋再生に利用される娘細胞と、幹細胞として再び組織に留まる娘細胞と異なる二種類の細胞に非対称的に分裂をすることで、常に体内に一定数の筋衛星細胞を維持している。しかし、筋ジストロフィーや廃用性筋萎縮といった疾患では、徐々に筋衛星細胞が減少していき、進行性に筋力低下が顕在化してくることが知られている。特に細胞骨格蛋白ジストロフィンが遺伝子変異により欠損したデュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy: DMD) は、20歳半ばで呼吸不全に至る難治性疾患であり、有効な治療法の確立が急務である。</p> <p>本研究の目的は、筋衛星細胞におけるG-CSFの作用機序を解明するとともに、DMDに対するG-CSF投与の有効性を検討することである。まず、筋線維培養法を用いて、筋衛星細胞におけるG-CSF受容体の詳細な発現パターンを解析した。筋線維培養法は筋損傷後の筋衛星細胞の活性化と増殖が再現されることが知られている。単離直後の筋線維における筋衛星細胞ではG-CSF受容体は発現していないが、単離後活性した細胞では約97%の細胞でG-CSF受容体が発現することを発見した。また、活性後最初の細胞分裂時には、殆どの細胞ではG-CSF受容体は均一に発現しているが、約5%の細胞ではG-CSF受容体の発現が陽性と陰性の細胞と非対称性に存在しており、筋衛星細胞が非対称性に分裂する際にG-CSF受容体も非対称に分布することを明らかとした。次に、筋線維培養時にG-CSFを添加し、筋衛星細胞に対するG-CSFの作用を検証した。するとG-CSFは筋衛星細胞の増殖を促進することを示した。以上の結果から、G-CSFは筋衛星細胞の増殖と維持に重要な因子であり、筋衛星細胞が減少する疾患に対してG-CSFが長期筋再生効果を示すことができるのではないかと考え、DMDモデルマウスを用いてG-CSF投与の有効性を検討した。ジストロフィン欠損マウス (mdx) にG-CSFを投与すると、骨格筋の再生を促進させ、運動機能を顕著に改善させた。さらに、DMDにおけるG-CSF投与の有効性を検証する為にmdxマウスとG-CSF受容体欠損マウスを交配し表現型を解析した。その結果、G-CSF受容体のヘテロ欠損mdxマウスでは筋再生が低下し、出生直後と筋変性の激しい時期に死亡することが明らかとなり、DMDにおいてG-CSFシグナルが重要であることを示した。最後に、20週齢前後で死亡するジストロフィンとユートロフィンの二重欠損マウス (double knockout: dkoマウス) にG-CSFを長期継続的に投与したところ、生存期間を著明に改善した。</p> <p>以上の研究により、G-CSFの長期投与は筋衛星細胞の維持と増殖を介してDMDの新たな治療薬となる可能性が示唆された。</p>			